

**Tartu Ülikool
Tervishoiu instituut**

**HIV-1 ÜLEKANDUVA RAVIMRESISTENTSUSE ESINEMINE
2010. AASTAL HIV-DIAGNOOSI SAANUD ISIKUTEL EESTIS**

Magistritöö rahvatervishoius

Merit Pauskar

Juhendajad:

Radko Avi, PhD, Tartu Ülikool mikrobioloogia instituut, teadur

Kristi Huik, MSc, Tartu Ülikool mikrobioloogia instituut, doktorant

Tartu 2013

Magistritöö tehti Tartu Ülikooli tervishoiu instituudis ja Tartu Ülikooli mikrobioloogia instituudis.

Tartu Ülikooli rahvatervishoiu kaitsmiskomisjon otsustas 20.05.2013 lubada väitekiri terviseteaduste magistrikraadi kaitsmisele.

Retsensent: Kaja-Triin Laisaar, MD, MPH, TÜ tervishoiu instituudi spetsialist, doktorant

Kaitsmine: 12.06.2013

SISUKORD

MAGISTRITÖÖ MATERJALIDE AVALDAMINE	4
KASUTATUD LÜHENDID	5
LÜHIKOKKUVÕTE	6
1. SISSEJUHATUS	8
2. KIRJANDUSE ÜLEVAADE.....	10
2.1. Mõisted.....	10
2.2. HIV-1 genoom ja struktuur	11
2.3. HI-viirus maailmas ja Eestis.....	11
2.4. HIV ravimid ja ravi	13
2.5. HIV-1 ravimresistentsus ja selle teke.....	15
2.6. HIV-1 ülekanduv ravimresistentsus maailmas.....	16
2.7. HIV-1 ülekanduv ravimresistentsus Eestis.....	16
2.8. HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse olulisus tervishoiusüsteemis.....	19
3. TÖÖ EESMÄRGID.....	21
4. MATERJAL JA METOODIKA.....	22
4.1. Uuringu materjal.....	22
4.2. RNA eraldamine ja pöördtranskriptsioon.....	22
4.3. <i>Nested</i> -PCR, sekveneerimine ja andmeanalüüs	22
5. TULEMUSED	25
5.1. HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse tase ja RRM-de jaotuvus 2010. aastal HIV-diagnoosi saanud isikutel	25
5.2. HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse tase 2010. aastal, võrreldes 2008. aastaga.....	27
6. ARUTELU	28
7. JÄRELDUSED	31
8. KASUTATUD KIRJANDUS	32
SUMMARY	36
TÄNUAVALDUS	37
ELULUGU	38

MAGISTRITÖÖ MATERJALIDE AVALDAMINE

Avi R, Huik K, Pauskar M, et al. Transmitted Drug Resistance Is Still Low in Treatment Naive Newly Diagnosed Human Immunodeficiency Virus-1 CRF06_cpx Infected Patients in Estonia in 2010. AIDS Res Hum Retroviruses (submitted).

KASUTATUD LÜHENDID

AIDS	omandatud immuunpuudulikkuse sündroom (ingl <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>)
ARV-	antiretroviirus-
cDNA	komplementaarne DNA (ingl <i>complementary DNA</i>)
cpx	kompleks (ingl <i>complex</i>)
CRF	tsirkuleeriv rekombinantne vorm (ingl <i>Circulating Recombinant Form</i>)
dNTP	desoksünukleotiiditriposfaat (ingl <i>deoxyriboNucleotideTriPhosphate</i>)
FI	fusiooni inhibiitor (ingl <i>Fusion Inhibitor</i>)
HAART	kombineeritud antiretroviirusravi (ingl <i>Highly Active Antiretroviral Therapy</i>)
HIV	inimese immuunpuudulikkuse viirus (ingl <i>Human Immunodeficiency Virus</i>)
INI	integraasi inhibiitor (ingl <i>Integrase Inhibitor</i>)
IQR	kvartiilide vahe (ingl <i>Interquartile Range</i>)
K103N	mutatsioon positsioonis 103, kus aminohape lüsiin (K) on asendunud aspargiiniga (N)
NNRTI	mittenukleos(t)iidne pöördtranskriptaasi inhibiitor (ingl <i>Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor</i>)
NRTI	nukleos(t)iidi pöördtranskriptaasi inhibiitor (ingl <i>Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor</i>)
PCR	polümeraasi ahelreaktsioon (ingl <i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PI	proteaasi inhibiitor (ingl <i>Protease Inhibitor</i>)
PR	proteaas (ingl <i>Protease</i>)
p-väärtus	olulisuse tõenäosus (ingl <i>p-value</i>)
RRM	ravimresistentsusmutatsioon
RT	pöördtranskriptaas e revertaas (ingl <i>Revertase</i>)
SN	süstiv narkomaan
TAM	tümidiin analoogiga seotud mutatsioon (ingl <i>Thymidine Analog Associated Mutation</i>)
UV	usaldusvahemik (ingl <i>Confidence Interval, CI</i>)

LÜHIKOKKUVÕTE

Tänapäeval on üheks suuremaks HIV-i ravis kasutatava antiretroviirusraviga (ARV-raviga) kaasnevaks probleemiks ravimresistentsuse teke. Ravimresistentsus võib tekkida ARV-ravi käigus või omandatakse nakatumisel ravimresistentsusmutatsioonide (RRM-e) kandva viirusega. Viimasel juhul on tegu ülekanduva ravimresistentsusega.

Ülekanduv ravimresistentsus on probleemiks peamiselt piirkondades, kus ARV-ravi on olnud kasutusel pikemat aega (Lääne-Euroopa, Põhja-Ameerika). Ida-Euroopa riikides on HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse levikut suhteliselt vähe uuritud, ilmunud tööde valimid on enamasti väikesed ning annavad infot vaid üksikute aastate kohta. Eestis on olukord mõnevõrra parem, esimene uuring viidi läbi 2000.–2005. aastal HIV-diagnoosi saanud isikutel. Selles uuringus ülekanduvat ravimresistentsust ei leitud. Teises, 2008. aastal HIV-diagnoosi saanud isikute hulgas läbi viidud uuringus oli ravimresistentsus tõusnud 5%-ni. See on määr, millest alates on näidatud, et HIV-positiivsetel oleks kulutõhus määrata ravieelne ülekanduv ravimresistentsus.

Ülekanduva ravimresistentsuse jälgimise vajadusele lisavad kaalu ka Eesti HIV-epideemia iseärasused, kus nii HIV-positiivsete kui ka ARV-ravi saavate patsientide arv on viimasel kümnendil hüppeliselt tõusnud.

Antud uuringu eesmärgid olid (1) määrata ülekanduva ravimresistentsuse tase 2010. aastal HIV-diagnoosi saanud isikutel Eestis, (2) kirjeldada HIV-1 ülekanduvate RRM-de jaotuvust 2010. aastal ja (3) võrrelda 2010. aasta uuringu tulemusi 2008. aasta uuringu tulemustega.

2010. aastal diagnoositi Eestis 372 uut HIV-juhtu. Neist 325-l olid plasmajäägid säilitatud Lääne-Tallinna Keskhaigla HIV-referentslaboris. 325 proovist õnnestus sekveneerida 244 (65%), mis moodustasid antud uuringu valimi. Ülekanduva ravimresistentsuse määramiseks sekveneeriti nende isikute viiruse proteaasi (PR) ja revertaasi (RT) piirkonnad. Sarnaselt eelnevate uuringutega kuulus üle 90% viirustest Eestile iseloomulikkude, kuid mujal maailmas haruldasse HIV-1 tsirkuleerivate rekombinantsete vormide (CRF-de) CRF06_cpx gruppi. Olulised RRM-d esinesid 4,5%-l (95% UV 2,54–7,89) viirustest. Enamlevinud olid mittenukleos(t)iidi pöördtranskriptaasi inhibiitorite (NNRTI-de) RRM-d K101E ja K103N, mis esinesid vastavalt 1 ja 5 juhul, neile järgnesid nukleos(t)iidi pöördtranskriptaasi inhibiitori (NRTI) RRM-d M41L, M184I ja K219E, mis esinesid vastavalt 2, 1 ja 1 juhul, ning proteaasi inhibiitori (PI) RRM V82A, mis esines 1 juhul.

HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse tase ei ole Eestis 2008. aastaga võrreldes oluliselt muutunud (5,5% 2008. aastal ja 4,5% 2010. aastal; $p = 0,80$). Sellist ülekanduva ravimresistentsuse esinemissageduse stabiliseerumist on kirjeldatud ka Lääne-Euroopa riikides.

Võttes arvesse WHO strateegia, mis soovib hinnata ülekanduva ravimresistentsuse määra iga 2–4 aasta tagant rahvastikus, kus see jääb alla 5%, ning arvestades kiirelt kasvavat ARV-ravi saajate arvu Eestis, on oluline jätkata ülekanduva ravimresistentsuse jälgimist Eestis ka edaspidi.

1. SISSEJUHATUS

Eestis diagnoositi esimene HIV-juhtum 1988. aastal. Kuni 2000. aastani oli HIV-i nakatunute arv Eestis üks madalamaid Euroopas. Kontsentreeritud epideemia puhkes 2000. aasta teises pooles (1), tõstes Eesti selle näitaja osas üheks esimeseks Euroopas (2). Alguses levis HIV peamiselt noorte meessoost süstivate narkomaanide (SN-de) hulgas, tänaseks on tõusnud naissoost ja heteroseksuaalsel teel nakatunute osakaal (3, 4). Eestis põhjustab HIV-nakkust peamiselt HIV-1 tsirkuleeriv rekombinantne vorm (CRF) CRF06_cpx (5).

Esimene antiretroviirusravim (ARV-ravim) zidovudiin võeti kasutusele USA-s 1980ndate lõpus (6). Paraku polnud selline ühest ravimist koosnev ARV-ravi (monoteraapia) kiire ravimresistentsuse tekke tõttu efektiivne (7). Oluline edasimineku ravis toimus vähemalt kolmest ARV-ravimist koosneva kombinatsiooni HAART-i (*highly active antiretroviral therapy*) kasutuselevõttuga 1990ndate keskel (8). HAART suudab alla suruda viiruse paljunemise, mistõttu tõuseb oluliselt HIV-i nakatunute elulemus (9) ning väheneb nakkuse ülekande tõenäosus (10).

Kiire HIV-infektsiooni leviku tõttu 2000. aastate alguses on viimastel aastatel Eestis oluliselt tõusnud nii ARV-ravi saajate hulk kui ka ARV-ravimitele kulunud summad. 2001. aastal sai Eestis ARV-ravi 27 isikut, 2010. aastal aga 1793 isikut ja ravikulud olid kasvanud kuni kuue miljoni euroni (11). Lisaks sellele on HAART-i laialdase kasutamisega seotud ka ravimresistentsete viiruste osakaalu tõus (12).

Ravimresistentsus on olukord, kus viirusel on võime ravimi juuresolekul paljuneda. Ravimresistentsust põhjustavad HI-viirusel ravimresistentsusmutatsioonid (RRM-d), mis tekivad viiruse vigaderohke paljunemisprotsessi käigus alaläviste raviannuste korral (13). Lisaks võidakse ravimresistentsed viirused omandada ka nakatumisel, mille korral on nakkuse põhjustanud viiruse genoomis RRM-d juba olemas ning viirus on teatud ARV-ravimitele resistentne. Viimast nimetatakse ülekanduvaks ravimresistentsuseks (14).

Ülekanduva ravimresistentsuse määr võib pikaajalise ARV-ravi praktikaga riikides (sh laialdase monoteraapia kasutamise korral) ulatuda 25%-ni (USA) (15). Lääne-Euroopas on ülekanduv ravimresistentsus jäänud viimasel kümnendil 10% piiresse (16–21). Vastupidiselt Eestile ei ole Ida-Euroopas, eriti aga endistes Nõukogude Liidu liiduvabariikide territooriumitel HIV-1 ülekanduvat ravimresistentsust järjepidevalt uuritud. Kui Eestis 2000.–2005. aastal HIV-diagnoosi saanud isikutel ei esinenud RRM-e (22), siis 2008. aastal HIV-diagnoosi saanud isikutel oli see näitaja juba 5,5% (23). 5% on määr, millest alates on peetud ravieelset ülekanduva

ravimresistentsuse määramist kulutõhusaks (24). WHO soovib ülekanduva ravimresistentsuse taset määrata iga kahe aasta tagant rahvastikus, kus see on $> 5\%$ (25).

2. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

2.1. Mõisted

Alalävine ravi on ravi (sh monoteraapia, kaksikteraapia, ebapiisavate annustega ravi), mille käigus ei saavutata viiruse paljunemise pidurdamiseks vajalikku ravimi kontsentratsiooni veres, mistõttu viiruse paljunemine jätkub ning välja võivad kujuneda RRM-d.

Alatüüp on geneetiliselt teineteisega sarnaste ning fülogeneetiliselt ühtset päritolu HIV-1 viiruste alagrupp.

cDNA on RNA-le komplementaarne DNA, nii HIV-1 replikatsioonitsükklis kui ka HIV-1 ravimresistentsuse määramisel on cDNA süntees vajalik vaheetapp.

CRF06_cpx on Eestis ringlev HIV-1 tsirkuleeriv rekombinantne vorm, mille koosseisus on mitmete HIV-1 subtüüpide piirkondi.

Fülogeneetiline analüüs on organismide rühma päritolu ja evolutsiooni analüüs, mis antud töö kontekstis lähtub geneetilise materjali analüüsist viiruse genoomi Pol regioonis.

Genoom on viiruse või mõne teise indiviidi kogu geneetiline materjal.

HIV ja HIV-1 mõisted on käesolevas töös kasutatud vastavalt valdkonna teaduskirjanduses levinud praktikale. Mõiste HIV võtab enda alla nii HIV-1 kui ka HIV-2 tüübi (seda kasutatakse näiteks kontekstides HIV-ravimid, HIV-positiivsus). Mõiste HIV-1 puhul peetakse silmas ainult HIV-1 viirusi (näiteks HIV-1 ravimresistentsus mutatsioonid, mis tagavad ravimresistentsuse just HIV-1 viirustele).

Kontiig on DNA järjestus, mis on kokku pandud DNA sekveneerimisel saadud lühematest DNA järjestustest (sekventsistest).

Nested-PCR on kaheastmeline PCR, mille eesmärgiks on tõsta DNA amplifitseerimise tundlikkust.

PCR (polümeraasi ahelreaktsioon) on meetod, mis võimaldab paljundada kindlat DNA piirkonda.

Praimerid on üksikahelalised oligonukleotiidid, mis kinnituvad komplementaarselt DNA mõlemasse otsa ning on vajalikud uue DNA ahela sünteesi alustamiseks PCR reaktsiooni käigus.

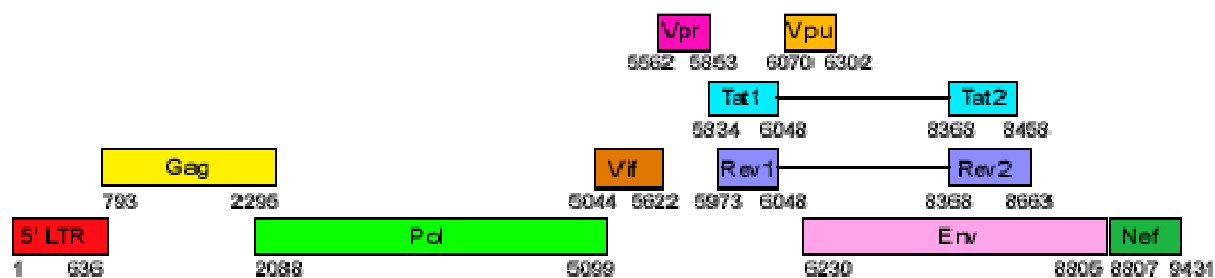
Pöördtranskriptsioon on cDNA sünteesimine RNA-st.

Transmissiooniklaster on grupp viirusi, millel on fülogeneetiliselt üks eellane ning sama päritolu ja lähedaselt seotud viirused.

Viiruse troopsus näitab, millist koretseptorit kasutab viirus rakku sisenemiseks. R5-troopsed viirused suudavad nakatada rakke (T-lümfotsüüdid), mille pinnal on koretseptor CCR5. X4-troopsed viirused, suudavad nakatada rakke (makrofaagid ja monotsüüdid), mille pinnal on koretseptor CXCR4. On kirjeldatud ka kaksitroopseid viiruseid (*dual tropic*), mis suudavad kasutada mõlemat koretseptori tüüpi.

2.2. HIV-1 genoom ja struktuur

HIV-1 genoom koosneb ligikaudu 10 000 nukleotiidist ning jaguneb valke kodeerivaks piirkonnaks ning genoomi mõlemas otsas olevateks LTR (*long terminal repeat*) regioonideks (joonis 1). HIV-1 genoom sisaldab struktuurvalke kodeerivaid regioone: Gag (*Group-specific antigens*) ja Env (*Envelope*), ensüüme kodeerivat regiooni Pol (*Polymerase*), regulaatorvalke kodeerivaid regioone Tat ja Rev ning lisavalkude sünteesi eest vastutavaid geene – Vif, Vpr, Vpu ja Nef. LTRid vastutavad viiruse replikatsiooni ning transkriptsiooni regulatsiooni eest (26).



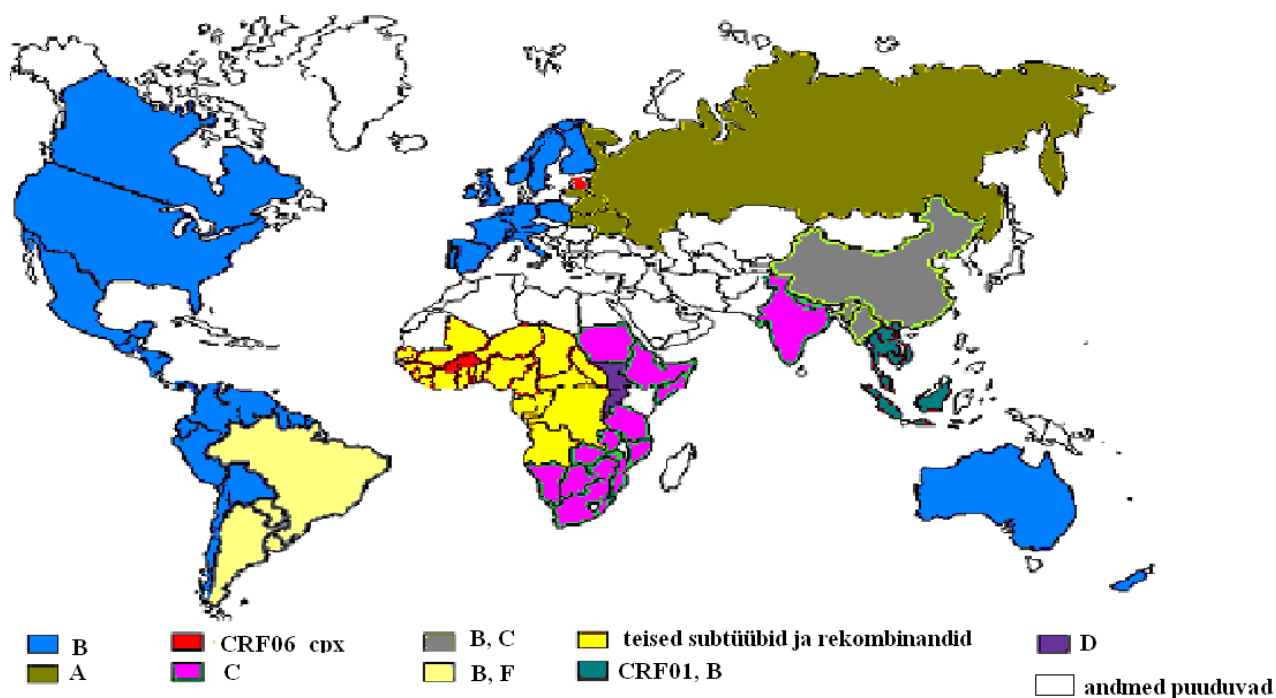
Joonis 1. HIV-1 genoomi struktuur (27).

2.3. HI-viirus maailmas ja Eestis

Esmakordselt kirjeldati omandatud immuunpuudulikkuse sündroomi (*acquired immunodeficiency syndrome* – AIDS) 1980ndatel Ameerika Ühendriikides homoseksuaalsetel meestel. Seda põhjustav retroviiruste sugukonda ja lentiviiruste perekonda kuuluv inimese immuunpuudulikkuse viiruse (HIV) isoleeriti mõned aastad hiljem (28, 29). Tänapäevaks on kirjeldatud kahte tüüpi HI-viirust: HIV-1 ja HIV-2. Kliiniliselt on eelkõige oluline HIV-1, mis põhjustab üle 90% maailma HIV-nakkuse juhtudest (30). Võrreldes HIV-1-ga, on HIV-2 nakatamisvõime väiksem ning haiguse progressioon aeglasem (31, 32).

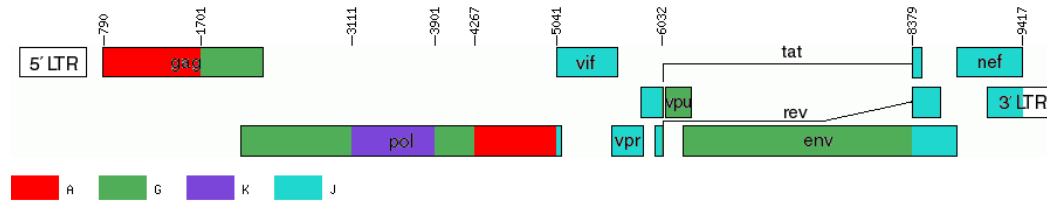
HIV-1 saab fülogeneetilise analüüsi järgi jagada järgmistesse gruppidesse: M (*major*), N (*non-M, non-O*), O (*outlier*) ja P. Ülemaailmset HIV-1 epideemiat põhjustavad peamiselt HIV-1

M-grupi viirused; N- ja O-grupi esindajad on levinud valdavalt Lääne-Aafrika regioonis. M-grupi viirused jagunevad üheksaks alatüübiks (A–D, F–H, J, and K) (30) ja rohkem kui 50 nendevaheliseks rekombinantseks vormiks (27). Maailmas on kõige levinum C-alatüüp, mis põhjustab üle 50% HIV-infektsioonidest, järgnevad alatüübid A, B, D ja erinevad CRF-d. Lääne-Euroopas, Põhja-Ameerikas ja Austraalias on valdav B-alatüüp. Ida-Euroopa endise Nõukogude Liidu territooriumil on levinud alatüüp A. Tänu pidevalt tõusvale immigratsioonile on kiirelt kasvamas teiste HIV-1 alatüüpide ning CRF-de osakaal ja geneetiline mitmekesisus (33). HIV-1 alatüüpide ja CRF-de esinemist maailmas iseloomustab joonis 2.



Joonis 2. HIV-1 alatüüpide ja CRF-de geograafiline jaotumine (34).

Eestis registreeriti esimene HIV-juhtum 1988. aastal. Kuni 2000. aasta esimese pooleni püsis HIV-juhtude arv madalana (1999. aasta lõpuks oli registreeritud 96 HIV-nakkuse juhtu) (1) ning nakatumist põhjustas peamiselt B-alatüüpi kuuluv viirus (35). Uute nakatunute plahvatuslik tõus toimus 2000. aasta teises pooles, kui SN-de ringkonda jõudis (4) seni vaid Lääne-Aafrikas kirjeldatud HIV-1 rekombinantne vorm CRF06_cpx (36). CRF06_cpx puhul on tegemist keeruka rekombinantse tüvega, mis koosneb alatüüpide A, G, K ja J järjestustest (joonis 3) (27).



Joonis 3. HIV-1 (CRF06_cpx) genoomi struktuur. Värvid tähistavad HIV-alatüüpe, millest pärinevad HIV-1 CRF06_cpx genoomsed piirkonnad (27).

Lisaks on Eestis kirjeldatud kuni 25%-l juhtudest ilmselt kohaliku tekkega järgmise põlvkonna rekombinanti, mis on tekkinud CRF06_cpx ja alatüübi A vahel. Kaks sellist viirust on sekveneeritud täisgenoomi ulatuses ning nimetatud CRF32_06A1 tüveks (5).

HIV-i uute juhtude arv on alates 2002. aastast küll vähenenud, kuid sellegipoolest on Eesti ka praegu HIV-i leviku poolest Euroopas esimeste hulgas. HIV-positiivsete osakaal kogu Eesti täisealises elanikkonnas ulatub hinnanguliselt 1,3%-ni (37). 2010. aastal diagnoositi Eestis 372 uut HIV-juhtu (28 juhtu 100 000 elaniku kohta), kokku oli 2010. aasta lõpuks diagnoositud 7692 HIV-positiivset (1).

Kui HIV-i levimus aastatel 2000–2010 oli stabiilselt domineeriv meeste hulgas (moodustades umbes 70% uutest juhtudest), siis tänaseks on HIV-i uute juhtude osakaal naiste hulgas hakanud tõusma (3). SN-de seas on HIV-i levimus endiselt kõrge – üle 50% (38).

2.4. HIV ravimid ja ravi

Esimesena võeti 1980ndatel ARV-ravina kasutusele monoteraapia zidovudiiniga, mis ei osutunud aga kiire ravimresistentsuse tekke tõttu edukaks (6). Suurem läbimurre saavutati aastal 1996, mil võeti kasutusele HAART – kombinatsioon vähemalt kolmest ARV-ravimist (8). Kolmikteraapia võimaldab viiruse replikatsiooni efektiivsemalt alla suruda ning seeläbi oluliselt vähendada RRM-de teket (39). Kombineeritud ravi parandab HIV-positiivsete isikute elulemust, vähendab oportunistlike haiguste teket (9) ja nakkuse ülekannet (10).

Täna on maailmas HIV-infektsiooni ravis kasutusel 25 erinevat toimeainet, mis jaotatakse vastavalt nende toimemehhanismile kuude klassi (tabel 1).

- **Nukleos(t)iidi pöördtranskriptaasi inhibiitorid (NRTI-d)** on nukleotiidide analoogid, mis lülitatakse cDNA ahelasse sünteesi käigus ning mis blokeerivad edasise ahela pikendamise.
- **Mittenukleos(t)iidsete pöördtranskriptaasi inhibiitorid (NNRTI)** on suunatud ensüümi RT vastu. Need seonduvad RT-ga ning muudavad ensüümi konformatsiooni, blokeerides selle töö.
- **Proteaasi inhibiitorid (PI)** pärsivad Pol geenilt sünteesitud proteaaside (PR) töö. PR on viirusele vajalik viiruslike polüproteiinide valmimiseks.
- **Integraasi inhibiitorid (INI)** blokeerivad Pol geenilt sünteesitud integraasi funktsioone, takistades viiruse DNA lülitumist inimese genoomi koosseisu.
- **Fusiooni inhibiitorid (FI)** takistavad viiruse sisenemist rakku, blokeerides viiruse Env valgu ja viirusele vajalike retseptorite (CD4+ ja CCR5) vahelisi interaktsioone. Seeläbi on takistatud viiruse membraani ja sihtmärkraku membraani ühinemine.
- **CCR5 retseptori antagonistide** ülesanne on seonduda HIV-1 koretseptori CCR5-ga, takistades seeläbi viiruse seondumist ja sihtmärkraku sisenemist (40).

Nimetatud ravimklasse on võimalik kasutada ka Eesti HIV-positiivsete patsientide ravis. Euroopa HIV-ravijuhis soovitab (millest lähtutakse ka Eestis) HIV-positiivsetel patsientidel alustada ARV-ravi, kui CD4+ T-rakkude arv on langenud alla 350 raku/mm³. Soovitatavaks esimese rea ARV-ravi kombinatsiooniks on 1 NNRTI + 2 NRTI-d või 1 PI + 2 NRTI-d (41).

Tabel 1. HIV-infektsiooni ravis kasutatavad ARV-ravimite klassid ja toimeained (42, 43)

NRTI	NNRTI	PI	FI
abakaviir (ABC)	delavirdiin (DLV)	atasanaviir (ATV)	enfuvirtiid (ENF)
tenofoviir (TDF)	efavirens (EFV)	nelfinaviir (NFV)	
zidovudiin (ZDV, AZT)	etraviriin (ETR)	darunaviir (DRV)	INI
didanosiin (DDI)	nevirapiin (NVP)	ritonaviir (RTV)	raltegraviir (RAL)
emtritsitabiin (FTC)	rilpiviriin (RPV)	fosamprenaviir (FPV)	elvitegraviir (EVG)
lamivudiin (3TC)		saquinaviir (SQV)	
stavudiin (d4T)		indinaviir (IDV)	CCR5 antagonist
		tipranaviir (TPV)	maraviroc (MVC)
		lopinaviir (LPV)	

2.5. HIV-1 ravimresistentsus ja selle teke

HIV-1 ravimresistentsust ARV-ravimitele põhjustavad RRM-d. Seda tingib viiruse vigaderohke paljunemisprotsess, mis alalävisel ravi käigus võib viia RRM-de tekkeni. Viiruse vigaderohke replikatsioon on seotud ensüümiga RT, mis teeb iga genoomse DNA sünteesil keskmiselt ühe vea. Peale nukleotiidide asenduste esineb HIV-1 paljunemisprotsessil ka deletsioone ja insertioone. Ning kiiret ravimresistentsuse teket (sh RRM-de kuhjumist) soodustab erinevate HI-viirustüvede võime rekombineeruda (13). Lisaks võib ravimresistentsuse omandada ülekanduva ravimresistentsusena (14).

RRM-d jagunevad kaheks: **primaarsed RRM-d**, mis tagavad otseselt resistentsust teatud ARV-ravimitele, ja **sekundaarsed RRM-d**, mis ei taga otseselt resistentsust, kuid parandavad primaarsete RRM-de olemasolul viiruse replikatsioonivõimet (44). HIV-1 ravimresistentsuse tekkeks on üldjuhul vaja rohkem kui ühte primaarset RRM-i, kuid mõne ravimi (näiteks lamivudiini) suhtes resistentsuse tekkeks piisab ühest mutatsioonist (45).

Üheks sagedasemaks NRTI RRM-ks on M184V/I, mille korral on RT ensüümi positsioonis 184 metioniin (M) asendunud valiini (V) või isoleutsiiniga (I). Sellisel juhul on NRTI-de lamivudiini või emtritsitabiini interaktsioon ensüümiga oluliselt nõrgem ning ravim pole võimeline viiruse paljunemist takistama (45). Sageduselt järgnevad RRM-d K65R, L74V/I ja Y115F. Lisaks põhjustavad osade NRTI-de (zidovudiini, stavudiini, tenofoviiri, abakaviiri ja didanosiini) suhtes resistentsust tümidiin-analoogidega seotud mutatsioonid (TAM) (M41L, L210W, T215Y/F, D67N, K70R, K219Q/E) (46).

NNRTI primaarsetest mutatsioonidest on kõige sagedasem K103N, mis põhjustab resistentsust pooltele NNRTI gruppi kuuluvatele ravimitele. Sageduselt järgnevad sellele V106A/M, Y181C/I/V, Y188L/C/H ja G190A/S. Kui esimese põlvkonna NNRTI (efavirens, nevirapiin) korral piisab ravimresistentsuse tekkeks ühest mutatsioonist, siis uue põlvkonna NNRTI (etraviiriin) puhul on selleks vaja vähemalt kahe primaarse RRM-i olemasolu (46, 47).

PI resistentsuse tekkeks on tavaliselt vaja kahe või enama RRM-i koosinemist. Peamised PI mutatsioonid on V32I, M46I/L, G48V/M, I54V/T/A/L/M, L76V, V82A/T/F/S, I84V, N88S, L90M, D30N ja I50V/L (46, 48).

INI vastu on suunatud neli peamist primaarset RRM-i: N155H, Q148H/R/K, E92Q ja G140S. Kõik neli mutatsiooni võivad üksikult põhjustada kliiniliselt olulist resistentsust, kuid tavaliselt eksisteerivad nad koos sekundaarsete RRM-dega (49).

CCR5 koretseptori antagonistiks on maraviroc. Maraviroc seondub CCR5 molekuliga, takistades HI-viirusel peremeesraku pinnale kinnitumist. Põhjus, miks maraviroci suhtes tekib resistentsus, on viiruspopulatsiooni troopsuse muutus. Tekkivad RRM-d HIV-1 Env geeni v3 piirkonnas muudavad viiruse koretseptori eelistust – viirus ei kasuta rakkudesse tungimiseks enam mitte koretseptorit CCR5, vaid hoopis koretseptorit CXCR4 (50).

Teise rakku sisenemise inhibiitori – FI resistentsus on seotud mutatsioonidega Env geeni gp41 piirkonnas. Peamised FI-vastase resistentsusega seotud mutatsioonid on I37V, V38A/M/E, G36D/S, Q38R, Q40H, N42T (51).

2.6. HIV-1 ülekanduv ravimresistentsus maailmas

Esmakordselt mainiti ülekanduvat ravimresistentsust zidovudiini suhtes 1993. aastal Ameerika Ühendriikides, seega kuus aastat pärast selle ravimi kasutusele võtmist (52). Ülekanduva ravimresistentsuse osakaal on olnud maailma erinevates piirkondades läbi aegade väga varieeruv (53). Pikaajalise ARV-ravi (sh eriti monoterapia) ajaloo riikides nagu USA võib ülekanduv ravimresistentsus ulatuda kuni 25%-ni (15). Lääne-Euroopas on ülekanduv ravimresistentsus viimasel kümnendil püsinud enamasti 10% piires või alla selle (16–21, 53), kuid võib esineda erandeid: näiteks Kreekas on kirjeldatud kuni 22%-ni ulatuvat ülekanduvat ravimresistentsust (54).

Kesk-Euroopas on ülekanduvat ravimresistentsust enim uuritud Poolas, kus ülekanduva ravimresistentsuse osakaal on olnud läbi aegade samuti varieeruv, jäädes vahemikku 3,9–28,7% (55). Endistes Nõukogude Liidu liiduvabariikides, mida iseloomustab peamiselt SN-de seas alguse saanud HIV-epideemia, on ülekanduv ravimresistentsus jäänud alla 5% (56–58).

2.7. HIV-1 ülekanduv ravimresistentsus Eestis

Eestis on ülekanduvat ravimresistentsust uuritud suhteliselt järjepidevalt. 2000.–2005. aastal HIV-diagnoosi saanud isikute hulgas primaarseid RRM-e ei leitud (22). Teises, 2008. aastal HIV-diagnoosi saanud isikute hulgas läbi viidud uuringus leiti, et 145 ravinaiivsest nakatunust kaheksal (5,5%; 95% UV 2,82–10,51) esines RRM-e. Kaheksast RRM-e kandvast viirusest kolmel esines resistentsust vähemalt kahe ARV-ravimite klassi suhtes (tabel 2). Ravimresistentsust NRTI-de, NNRTI-de ja PI-de suhtes esines vastavalt neljal (2,76%; 95% UV 1,08–6,88), kolmel (2,1%; 95% UV 0,71–5,91) ja neljal (2,76%; 95% UV 1,08–6,88) juhul. 145

patsiendist seitsmel esines keskmine või kõrgetasemeline resistentsus vähemalt ühele ARV-ravimile. Kolm kõige sagedasemat RRM-i olid NNRTI mutatsioon K103N ja PI mutatsioonid M46I ning L90M. Kõiki nimetatud mutatsioone esines kolmel korral. Sageduselt järgnesid neile NNRTI mutatsioonid M184I/V, M41L, A62V ja T215C/DN, mida esines kokku kahel juhul. Kõrgetasemelist resistentsust esines kõige rohkem NNRTI inhibiitoritele efavirens ja nevirapiin (seotud mutatsiooniga K103N) ning proteaasi inhibiitorile nelfinaviir (seotud mutatsiooniga L90M) (23). Antud RRM-de muster vastab Eestis kasutusel olnud raviprofiilile (59) ning sarnaneb Lääne-Euroopas kirjeldatuga (19, 60, 61).

Tabel 2. HIV-1 ülekanduv ravimresistentsus 2008. aastal HIV-diagnoosi saanud isikutel (23)

ID	Sugu	Viiruse alatüüp	Resistentsusmutatsioonid ARV-ravimklasside kaupa			Resistentsuse tase ARV-ravimite toimeainetele ¹			
			NRTI mutatsioonid	NNRTI mutatsioonid	PI mutatsioonid	Kõrge	Keskmine	Madal	Võimalik madal
10	M	CRF06_cpx	–	–	L90LM	NFV	SQV/r	ATV/r, FPV/r, IDV/r	LPV/r
21	N	CRF06_cpx	M184V	–	–	3TC, FTC	–	ABC	ddI
54	M	CRF06_cpx	–	K103N	–	EFV, NVP	–	–	–
83	M	B	M41L, A62V, T215C	–	M46I, L90M	NFV	AZT, d4T, ATV/r, FPV/r, IDV/r, SQV/r	ABC, ddI, TDF, LPV/r	3TC, FTC
142	M	CRF06_cpx	–	K103KN	–	EFV, NVP	–	–	–
153	N	CRF06_cpx	–	–	M46I	–	–	NFV/r	ATV/r, FPV/r, IDV/r, LPV/r
163	N	B	M41L, A62V, T215DN	–	M46I, L90M	NFV	AZT, d4T, ATV/r, FPV/r, IDV/r, SQV/r	ABC, ddI, TDF, LPV/r	3TC, FTC
176	N	CRF06_cpx	M184I	K103N, V108I, V179E, P225H	–	3TC, FTC, EFV, NVP	–	ABC	ddI

¹ Resistentsuse tasemed väljastab *Stanford University HIV Drug resistance database*'i interpretatsiooni süsteem.

3TC, lamivudiin; ABC, abakaviir; ATV/r, atasanaviir; AZT, zidovudiin; d4T, stavudine; ddI, didanosiin; EFV, efavirens; ETR, etraviriin; FPV/r, fosamprenaviir; FTC, emtritsitabiin; IDV/r, indinaviir; LPV/r, lopinaviir; NFV, nelfinaviir; NVP, nevirapiin; RPV, rilpiviriin; SQV/r, saquinaviir; TDF, tenofoviir.

2.8. HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse olulisus tervishoiusüsteemis

Eestis on ARV-ravimid tasuta kõigile HIV-positiivsetele (st nii ravikindlustusega kui ka ravikindlustuseta) isikutele ja ARV-ravimite kulud kaetakse riigieelarvest. Ravikindlustatud isikute tervishoiuteenused katab Eesti Haigekassa, kindlustamata patsientidele on eraldatud raha riigieelarvest. Ravimeid ostetakse riigihangete korras ning vastavad summad on viimastel aastatel kiirelt kasvanud. Näiteks on alates 2001. aastast kuni 2010. aastani ARV-ravi saajate arv tõusnud 27-lt 1793 isikuni. 2010. aastal oli ARV-ravile kulunud summa kuus miljonit eurot (11). 2011. aasta lõpu seisuga oli ARV-ravi saajaid juba ligi 2200 (62).

ARV-ravile kuluvaid summasid suurendab ka HIV-i ravimresistentsus. Esiteks, kuna ARV-ravi aitab vähendada haigestumust HIV-ga kaasnevatesse haigustesse (nt tuberkuloosi), siis ARV-ravi ebaõnnestumise korral lisanduvad nende haiguste ravikulud (63). Teiseks suurendab ravi ebaõnnestumine (kõrgem viiruskoormus) nakkuse ülekande tõenäosust, mis omakorda viib suurema nakatunute arvuni (10). Kolmandaks on RRM-e kandvate viiruste ravis vajalikud teise ja kolmanda rea ravimid, mis on sageli esimese rea ravimitest oluliselt kallimad. Seetõttu on oluline, et ARV-ravi oleks võimalikult efektiivne, õigeaegne ning hõlmatus maksimaalne, et piirata epideemia edasist levikut (63) ning ravimresistentsuse teket (12) ja ülekandumist (10).

Vältimaks üleliigseid kulusi ja tagamaks patsiendi heaolu soovivad Euroopa ja Ameerika Ühendriikide HIV-ravijuhised teha ravieelne ravimresistentsustest (42, 64). Test on soovitatav läbi viia ajal, mil isik saab HIV-diagnoosi, kuna ARV-ravi puudumisel võivad viirusel toimuda nn tagasi-mutatsioonid. Sellisel juhul ei kanna veres ringlevad viirused enam RRM-e ja ravimresistentsustestid pole võimelised neid määrama, kuid ravi alustamisel ilmnevad RRM-d uuesti ning ravi ebaõnnestub (13, 65).

HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse olulisusele kui rahvatervise probleemile viitab ka WHO välja antud globaalne strateegia ülekanduva ravimresistentsuse seireks ja monitooringuks. WHO soovib ülekanduva ravimresistentsuse määra hinnata kaheaastase intervalliga. WHO klassifitseerib ülekanduva ravimresistentsuse tasemed: madal ($< 5\%$), keskmine ($5\text{--}15\%$) ja kõrge ($> 15\%$). Ravimresistentsuse kõrgest tasemest alates soovitatakse HIV-diagnoosi saanud isikutel ravieelselt määrata RRM-d ning teha ravieelne HIV-1 ravimresistentsustestide kulutõhususanalüüs (25). Siiani on ravieelsete HIV-1 ravimresistentsustestide kulutõhususanalüüsi läbi viidud suhteliselt vähe. Üks USA teadlaste kulutõhususe uuring näitas, et ravieelne ravimresistentsuse testimine on kulutõhus, kui ülekanduva ravimresistentsuse määr esmasdiagnostikute hulgas on $> 5\%$ (24). Üks hilisem Hollandis tehtud kulutõhususanalüüs

leidis, et ravieelne testimine ei ole kulutõhus, kui ülekanduva ravimresistentsuse levimus on \leq 8,7% (66).

3. TÖÖ EESMÄRGID

1. Määrata HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse tase 2010. aastal HIV-diagnoosi saanud isikutel.
2. Kirjeldada HIV-1 ülekanduvate RRM-de jaotuvust 2010. aastal.
3. Võrrelda 2010. aasta uuringu tulemusi 2008. aasta uuringu tulemustega.

4. MATERJAL JA METOODIKA

4.1. Uuringu materjal

Uuringu materjaliks olid 2010. aastal HIV-diagnoosi saanud isikute plasmajäägid, mis pärinesid HIV-referentslaborist Lääne-Tallinna Keskhaiglast. Kokku oli säilitatud 325 HIV-positiivse ravinaivse isiku plasmajäägid (2010. aastal diagnoositi 372 HIV-positiivset).

Uuring viidi läbi Tartu Ülikooli mikrobioloogia instituudis ja uuringuks on loa andnud Tartu Ülikooli Inimuuringute eetikakomitee.

4.2. RNA eraldamine ja pöördtranskriptsioon

Viiruse RNA eraldati 140 µl külmutatud plasmast, kasutades *Qiaamp RNA Mini Kit*'i (*Qiagen*, Saksamaa, Hilden) vastavalt tootja protokollile. Eraldatud RNA säilitati edasisteks analüüsideks -80 °C juures.

Pöördtranskriptsioon (cDNA süntees) PR ja RT piirkonnas viidi läbi 9,6 µl RNA-lt. Reaktsiooni lõppmaht oli 20 µl, sisaldades järgmisi reagente vastavates lõpp-kontsentratsioonides: 1 X MuLV RT-PCR puhver, 1 mM dNTP (desoksünukleotiiditriposfaatide segu), 0,4 µM praimerit JA272degen (5'-GGATAAATMTGACTTGCCCACT-3'), 16 U RNAasi inhibiitor, 16 U MuLV-RT (*Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase*).

Pöördtranskriptsiooni reaktsioonisegu inkubeeriti esmalt 1 tund ja 30 minutit 37 °C juures ning seejärel 5 minutit 95 °C juures. Nii pöördtranskriptsioon kui ka edaspidised reaktsioonid viidi läbi termotsükleril *Eppendorf Mastercycler* (*Eppendorf International*; Saksamaa, Hamburg). Praimerid telliti firmast *TAG Copenhagen A/S* (Taani, Kopenhaagen) ja kõik reagentid firmast *Fermentas International Inc* (Kanada, Burlington).

4.3. Nested-PCR, sekveneerimine ja andmeanalüüs

HIV-1 PR ja RT piirkonna (2242–3333 aluspaari) amplifitseerimiseks kasutati *nested*-PCR-i, mille puhul toimub PCR kahes teineteisele järgnevas etapis. *Nested*-PCR-i esimene etapp viidi läbi 25 µl reaktsioonisegus, kuhu lisati 5 µl cDNA-d. Reaktsioonisegu sisaldas järgmisi reagente (vastavates kontsentratsioonides): 0,2 mM dNTP, 1 U *HotStart Taq* DNA polümeraasi (*recombinant*) ja *Pfu* DNA polümeraasi (*recombinant*) segu (6 : 1), 1,5 mM MgCl₂, 1 X PCR

reaktsiooni puhvrit, 0,5 µM praimereid JA269degen (5'-AGGAAGGMCACARATGAARGA-3') ja JA272degen (5'-GGATAAATMTGACTTGCCCCART-3'). *Nested*-PCR teine etapp toimus 50 µl reaktsioonisegus, kuhu lisati 3 µl esimese etapi produkti, ning mille reaktsioonisegu sisaldas samu komponente, mida esimene etappki, välja arvatud praimereid. *Nested*-PCR teises etapis kasutati praimereid 0,5 µM JA270 (5'-GCTTCCCTCARATCACTCTT-3') ja JA271 (5'-CCACTAAYTTCTGTATRTCATTTGAC-3'). *Nested*-PCR esimese ja teise etapi termotsükleri programmid on toodud tabelis 3.

Tabel 3. *Nested*-PCR esimese ja teise etapi termotsükleri programmid RT ja PR piirkonna amplifikatsiooniks

HotStart aktivatsioon	Amplifikatsiooni tsükliid		Lõplik praimerite ekstensioon	
	29 kordust I etapis (39 kordust II etapis)			
T = 95 °C 4 min	Denaturatsioon T = 94 °C 40 sek	Praimerite seandumine T = 50 °C 40 sek	Praimerite ekstensioon T = 72 °C 1 min 30 sek	T = 72 °C 6 min

Nested-PCR produkti olemasolu ja kvaliteeti kontrolliti 1% agarose geel-elektroforeesi järgselt ultravioletvalguses. Sekveneerimiseks kasutati vaid neid produkte, millel elektroforeesil esines üks PCR-produkt nõutud suurusel (1000 aluspaari).

PR ja RT piirkonna sekveneerimine viidi läbi *BigDye terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit*-ga. Sekveneerimisprodukti elektroforees tehti *Applied Biosystems 3730xl DNA Analyzer* kapillaarelektroforeesi masinaga (*Applied Biosystems; Life Technologies Corporation*, Ameerika Ühendriigid, Carlsbad), kasutades 50 cm kapillaare ning POP7 polümeeri (*Applied Biosystems; Life Technologies Corporation*, Ameerika Ühendriigid, Carlsbad). Sekveneerimistööd teostas TÜ Sekveneerimiskeskus.

DNA sekveneerimisel saadud nukleotiidsed järjestused assambleeriti kontiigideks, kasutades *VectorNTI (Invitrogen Corporation; Ameerika Ühendriigid, Carlsbad)* tarkvarapaketi olevat *ContigExpress* programmi. Ülekanduvate RRM-de detekteerimiseks kasutati HIV-1 *Drug Resistance Database*'i *Calibrated Population Resistance (CPR) Tool Version 6.0* programmi (<http://cpr.stanford.edu/cpr.cgi>).

Täispikad DNA järjestused joondati programmiga MEGA4.1 ning koostati/transleeriti PR ja RT piirkonna aminohappeliseks järjestusteks. PR ja RT piirkonna fülogeneesipuu konstrueeriti, kasutades MEGA tarkvarapaketi olevat Kimura kaheparameetrilist mudelit

(<http://www.megasoftware.net/mega4/mega41.html>). Programmi sisestati HIV-1 alatüüpide referentjärjestused ja uuritavad järjestused. HIV-1 referentsjärjestused võeti *HIV sequence database*'ist (<http://www.hiv.lanl.gov/content/index>). Alatüübid defineeriti järjestuste kokkuklasterdumise alusel referentsjärjestustega.

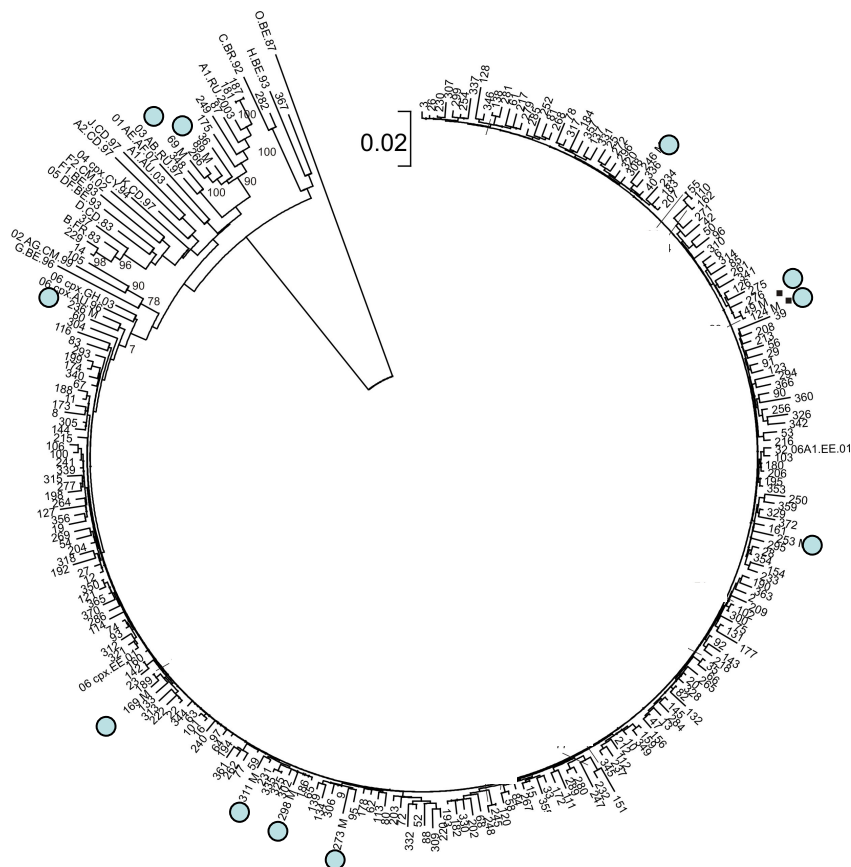
2008. ja 2010. aastal esinevate HIV-1 resistentsust määravate mutatsioonide esinemissageduse võrdlemisel kasutati *Fisher exact* testi.

5. TULEMUSED

5.1. HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse tase ja RRM-de jaotuvus 2010. aastal HIV-diagnoosi saanud isikutel

Uuringu 325 proovist õnnestus PR ja RT piirkond sekveneerida 244 (s.o 75%) HIV-1 viirusel. 244 uuritavast 61,9% olid mehed ning uuritavate vanuse mediaan oli 30 aastat (IQR = 25;36). Enamikul isikutest (71,5%) oli HIV-testimise põhjus teadmata, 18%-l uuritavatest oli testimise põhjuseks viibimine kinnipidamisasutuses, 8,1%-l rasedusaegne skriinimine ning 2,4% olid vere- või organdonorid.

Fülogeneetiline analüüs näitas, et sarnaselt eelnevate uuringutega olid suurem osa viirustest CRF06_cpx (93%) (joonis 3). Üheksal uuritaval (3,7%) esines alatüüp A1, kolmel (1,2%) alatüüp B; alatüüp C, CRF02_AG ja CRF03_AB esinesid ühel juhul. Kaks (ID 49 ja 124, tabel 4) sarnase RRM mustriga (K103N) viirust klasterdusid fülogeneesipuul kokku, viidates potentsiaalsele ravimresistentsuse transmissiooniklastrile.



Joonis 3. HIV-1 Pol piirkonna fülogeneetiline analüüs 2010. aastal HIV-diagnoosi saanud isikutel (ringid tähistavad RRM-de esinemist, ruudud RRM-i transmissiooniklastrit). Referentsjärjestustesse kuulusid alatüübid A1, A2, B, C, D, F1, F2, G, H, J, K, CRF01_AE, CRF02_AG, CRF03_AB, CRF32_06A1 ja CRF06_cpx.

Üheteistkümnest RRM-e kandvast viirusest kaks kuulusid alatüüpi A1, ülejäänud RRM-d esinesid Eestis domineerival CRF06_cpx (tabel 4). Primaarseid RRM-e esines kokku 4,5% (95% UV 2,54–7,89) viirustest. Viirusi, mis omaksid korraga resistentsust kahele või kolmele ravimklassile, ei esinenud. Kõige rohkem ($n = 6$) esines RRM-e NNRTI-dele (2,46%; 95% UV 1,13–5,26). Antud ravimklassis olid kõige sagedasemad RRM-d K103N ja K101E, mida esines vastavalt viiel ja ühel juhul. K103N on seotud kõrgetasemelise resistentsusega efavirensile ja nevirapiinile, K101E keskmise taseme resistentsusega nevirapiinile. RRM-e NRTI-dele esines neljal juhul (1,6%; 95% UV 0,64–4,14) ning leitud mutatsioonid olid M41L, K219E ja M184I, mida esines vastavalt kahel, ühel ja ühel juhul. Viimati nimetatud mutatsioon on seotud kõrgetasemelise resistentsusega lamivudiinile ja emtritsitabiinile. Kõige vähem esines resistentsust PI-dele, ainus RRM antud ravimklassis oli V82A, mida esines ühel juhul (0,4%; 95% UV 0,07–2,28). Antud mutatsioon on seotud keskmisetasemelise resistentsusega PI inhibiitoritele nelfinaviir ja indinaviir. 244 patsiendist kaheksal esines kõrge- või keskmisetasemeline resistentsus vähemalt ühele ARV-ravimile.

Tabel 4. HIV-1 ülekanduv ravimresistentsus 2010. aastal HIV-diagnoosi saanud isikutel

ID	Vanus	Sugu	Viiruse alatüüp	Testimise põhjus	Resistentsusmutatsioonid ARV-ravimklasside kaupa			Resistentsuse tase ARV-ravimite toimeainetele ¹			
					NRTI mutatsioonid	NNRTI mutatsioonid	PI mutatsioonid	Kõrge	Keskmine	Madal	Võimalik madal
49	25 a	M	CRF06_cpx	KPAVI*	–	K103N	–	EFV, NVP	–	–	–
89	37 a	N	A1	Teadmata	M41L	–	–	–	–	AZT, d4T	–
69	28 a	N	A1	Teadmata	M41L	–	–	–	–	AZT, d4T	–
124	–	N	CRF06_cpx	KPAVI*	–	K103N	–	EFV, NVP	–	–	–
169	29 a	N	CRF06_cpx	Teadmata	M184I	–	–	3TC, FTC	–	ABC	ddI
236	27 a	M	CRF06_cpx	KPAVI*	K219E	–	–	–	–	–	AZT, d4T
246	21 a	N	CRF06_cpx	Rasedus	–	K101E	–	–	NVP	EFV	ETR, RPV
253	26 a	M	CRF06_cpx	KPAVI*	–	K103N	–	EFV, NVP	–	–	–
273	30 a	N	CRF06_cpx	Teadmata	–	–	V82A	–	IDV/r, NFV	ATV/r, LPV/r	SQV/r, FPV/r
298	31 a	M	CRF06_cpx	Teadmata	–	K103N	–	EFV, NVP	–	–	–
311	37 a	M	CRF06_cpx	KPAVI*	–	K103N	–	EFV, NVP	–	–	–

¹ Resistentsuse tasemed väljastab *Stanford University HIV Drug resistance database*'i interpretatsiooni süsteem.

*KPAVI – kinnipidamisasutuses viibiv isik.

3TC, lamivudiin; ABC, abakaviir; ATV/r, atasanaviir; AZT, zidovudiin; d4T, stavudiin; ddI, didanosiin; EFV, efavirens; ETR, etraviriin; FPV/r, fosamprenaviir; FTC, emtritsitabiin; IDV/r, indinaviir; LPV/r, lopinaviir; NFV, nelfinaviir; NVP, nevirapiin; RPV, rilpiviriin; SQV/r, saquinaviir.

5.2. HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse tase 2010. aastal, võrreldes 2008. aastaga

HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse tase 2010. aastal ei näidanud olulist muutust, võrreldes 2008. aastaga, jäädes viie protsendi lähedusse: 4,5% 2008. aastal ja 5,5% 2010. aastal ($p = 0,80$). RRM-de võrdlus on esitatud tabelis 5. Kui 2010. aastal esines enim NNRTI-dele suunatud RRM-e (2,5%), siis 2008. aastal oli ravimresistentsust antud ravimklassile kõige vähem (2,1%). Kõige sagedasem NNRTI-dele suunatud RRM oli K103N, mis esines mõlemal aastal umbes 2%-l viirustest. Kui 2008. aastal esines ravimresistentsust PI-dele 2,8%-l viirustest, siis 2010. aastal kõigest 0,4%-l viirustest ($p = 0,06$). Mutatsioone, mis olid suunatud NRTI-dele, esines mõlemal aastal neljal viirusel (vastavalt 2,8%-l viirustest 2008. aastal ja 1,6%-l viirustest 2010. aastal). 2010. aastal oli antud ravimklassis peamiseks esinenud mutatsiooniks M41L, mida leiti kahel viirusel. 2008. aastal esines mutatsiooni M41L samuti kahel viirusel, kuid sama arv esines lisaks veel mutatsioone M184I/V ja A62V. Kokkuvõtlikult võib öelda, et kahe aasta võrdluses ei olnud RRM-de esinemine nii üksikult kui ka ravimklassiti statistiliselt oluliselt erinev.

Tabel 5. HIV-1 ülekanduvate RRM-de esinemine 2008. ja 2010. aastal HIV-diagnoosi saanud isikutel

Ravimklass	RRM	2008	2010	p-väärtus
		n = 145(%)	n = 244(%)	
NRTI	Kokku*	4 (2,8)	4 (1,6)	0,47
	M41L	2 (1,3)	2 (0,8)	0,63
	M184I/V	2 (1,3)	1 (0,4)	0,55
	K219E	0	1 (0,4)	1
	A62V	2 (1,3)	0	0,13
	T215DC/DN	1 (0,7)	0	0,37
NNRTI	Kokku*	3 (2,1)	6 (2,5)	1
	K103N	3 (2,1)	5 (2,04)	1
	V108I	1 (0,7)	0	0,37
	K101E	0	1 (0,4)	1
	V179E	1 (0,7)	0	0,37
	P225H	1 (0,7)	0	0,37
PI	Kokku*	4 (2,8)	1 (0,4)	0,06
	V82A	0	1 (0,4)	1
	L90M	3 (2,1)	0	0,05
	M46I	3 (2,1)	0	0,05
RRM-d \geq 2 ravimklassile		3 (2,1)	0	0,05

*Ühel uuritaval võis esineda korraga rohkem kui üks mutatsioon.

6. ARUTELU

Käesolev töö näitas, et ülekanduva ravimresistentsuse tase 2010. aastal HIV-diagnoosi saanud isikute hulgas on 4,5%. Enamik HIV-infektsioonidest oli põhjustatud HIV-1 CRF06_cpx tüve poolt. Võrreldes 2008. aasta vastavate näitajatega, ei ole Eestis ülekanduva ravimresistentsuse tase statistiliselt oluliselt muutunud.

Lääne-Euroopa kontekstis on Eesti ülekanduva ravimresistentsuse tase umbes poole madalam (16, 18–21, 53). Samas on täheldatav ülekanduva ravimresistentsuse taseme stabiliseerumise trend ka nendes riikides (20). Sarnasusi ülekanduva ravimresistentsuse taseme osas võib pigem leida endiste Nõukogude Liidu liiduvabariikidega, kus ülekanduva ravimresistentsuse tase on püsinud 5% piires. Siinkohal tuleb muidugi silmas pidada, et need uuringud on tehtud suhteliselt väikese arvu patsientidega (56–58).

Seletusi ülekanduva ravimresistentsuse püsivalt madalale tasemele Eestis võib olla mitmeid. Üheks olulisemaks neist võiks pidada Eesti HIV-epideemia suhtelist noorust. Enamus HIV-nakkuse juhte registreeriti alles 2000. aastal. Sellest tulenevalt on ARV-ravi saajate arv suhteliselt tagasihoidlik kogu HIV-positiivsete arvust (2010. aastal oli läbi aegade kõigist HIV-positiivseks diagnoositud 7692 isikust ARV-ravi saajaid ligikaudu 1800) (11). Teiseks on olnud Eestis ühe peamise ülekanduva ravimresistentsuse allika – mono- ja kaksikteraapia – osakaal 1990ndatel väga väike, sest Eestis puudusid sellel ajal ARV-ravi vajavad isikud (35). Lääne-Euroopas ja Ameerika Ühendriikides oli seevastu mono- ja kaksikteraapia saajaid kordades rohkem, mis tõenäoliselt on ka sealse kõrgema ülekanduva ravimresistentsuse taseme põhjustajaks (61).

Kolmandaks võib sellist madalat taset seostada ka genotüüpilise ravimresistentsustesti kasutuselevõttuga (Eestis on see test kasutusel 2005. aastast), mis võimaldab määrata ARV-ravi saajatel esinevaid RRM-e ja selle alusel ravi korrigeerida (67). See viib omakorda nii nakkuse kui ka ülekanduva ravimresistentsuse vähenemiseni ravinaiivsetel patsientidel.

Lääne-Euroopas võib ülekanduva ravimresistentsuse stabiliseerumist seostada ka uuemate ARV-ravimite järjest laialdasema kasutusega. Antud ravimklassidel on vanemate ravimiklassidega võrreldes kõrgem geneetiline barjäär, mis tähendab, et resistentsuse tekkeks on vajalik rohkem kui ühe mutatsiooni samaaegne esinemine (47). Lisaks võib sellist stabiliseerumist Lääne-Euroopa riikides seostatud immigrantide hulga tõusuga riikidest, kus on kõrge HIV-levimus, kuid ARV-ravi kättesaadavus ja seega võimalused ravimresistentsuse väljakujunemiseks on limiteeritud (68, 69). Eestis on viimase faktori mõju ilmselt peaaegu olematu.

Lähtudes aga Eesti HIV-epideemia iseärasustest, ei pruugi edasine olukord sellisena püsida. Erinevalt Lääne-Euroopa HIV-positiivsetest on Eesti HIV-positiivsed valdavalt noored meessoost SN-d. Sellisel riskirühmal on näidatud mõnevõrra madalamat ravisoostumust (70). Samas, hiljutine Eestis läbiviidud uuring näitas, et ravisoostumus ei sõltu süstitavate narkootikumide kasutamisest (71). Olulist mõju avaldab kindlasti ka järgnevatel aastatel tõusev ARV-ravimite kasutamine ning ARV-ravil olijatel järk-järguline resistentsuse väljakujunemine (72).

Käesolevast uuringust selgus, et ülekanduvate RRM-de seas on mõnevõrra rohkem esindatud NRTI- ja NNRTI-vastased mutatsioonid, võrreldes PI-vastaste mutatsioonidega. Nimetatud erinevus tuleneb tõenäoliselt sellest, et eelnevatel aastatel on eelistatud ravimite kombinatsiooni 1 NNRTI + 2 NRTI (efavirens + abakaviir/lamivudiin või efavirens + zidovudiin/lamivudiin), kuigi Euroopa HIV-ravijuhis peab esimese rea ARV-ravimitena võrdselt sobivateks nii PI kui ka NRTI kombinatsioone (41). 2008. aastal läbi viidud uuringus ja 2010. aasta uuringus oli kõige sagedasemaks NNRTI RRM-ks K103N. Antud mutatsioon tagab kõrgetasemelise resistentsuse efavirensile ja nevirapiinile, millest esimene on enimkasutatav NNRTI Eestis (73). K103N mutatsiooni kõrget esinemissagedust erinevates ülekanduva ravimresistentsuse uuringutes on näidatud ka varem (19, 60, 61, 65).

Riikide sotsiaalmajanduslikust olukorrast lähtudes on oluline hinnata HIV-diagnoosi saanud isikute ravieelsete RRM-de määramise kulutõhusust. Siiani on läbi viidud üksikuid HIV-i ravieelse testimise kulutõhususe analüüse. USA-s näidati, et ravieelne RRM-de määramine on kulutõhus, kui ülekanduva ravimresistentsuse osakaal on üle 5% (24). Samas, hiljutine Hollandi uuring leidis, et ka 8,7%-lise ülekanduva RRM-de taseme juures ei ole ravieelne RRM-de määramine kulutõhus (66). Siinkohal tuleb arvestada ravi ja tervishoiuteenuste maksumuste erinevustega, mistõttu ei ole võimalik kulutõhususanalüüse automaatselt ühelt riigilt teisele üle kanda. Seega, käesoleva töö põhjal ei ole võimalik teha järeldusi Eesti HIV-positiivsete ravinaivsete isikute RRM-de ravieelse testimise kulutõhususe kohta. Samas jagavad Euroopa HIV ravimresistentsuse spetsialistid arvamust, et kui ei oleks majanduslikke piiranguid, tuleks RRM-e ravieelselt testida kõigil ravinaivsetel HIV-positiivsetel isikutel. RRM-de ravieelse testimisega saaks tagada parima ARV-ravi, ennetada kiiret ravimresistentsuse teket ja selle ülekandumist (paneeldiskussioon „11th European Meeting on HIV & Hepatitis- Treatment Strategies & Antiviral Drug Resistance“; 20.–22. märts 2013; Rooma, Itaalia).

Kuna antud töös puudusid andmed HIV serokonversiooni aja kohta, siis ei olnud võimalik hinnata ülekanduva ravimresistentsuse määra värskest nakatunud või kroonilistel haigetel. Samas ei ole nimetatud andmeid sageli esitatud ka varasemates töödes (15, 56, 65). Üldiselt

ollakse arvamisel, et ülekanduva ravimresistentsuse levimus värskest nakatunutel on kõrgem kui kroonilistel haigetel (12,2% vs 6,1%) (74). Rootsi ja Eesti HIV andmebaasi andmetel on HIV-diagnoosi saanud isikute seas palju kroonilise infektsiooni kandjaid („1st Meeting of the Finnish-Estonian Infectious Diseases Societies on Common Epidemics in the Region“; 19. aprill 2013; Tallinn, Eesti), seega võib oletada, et ka Eestis on ülekanduva resistentsuse määr värskest HIV-i nakatunutel kõrgem kui esmasdiagnoositutel. Teiseks puudus informatsioon 2010. aastal HIV-diagnoosi saanud isikute riskikäitumise kohta, mis ei luba teha järeldusi ülekanduva ravimresistentsuse võimaliku leviku kohta erinevates HIV-positiivsete riskirühmades.

Käesolev magistritöö andis olulise panuse Eesti HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse järjepideva monitoorimise läbiviimisesse. Selline ülekanduva ravimresistentsuse jälgimine kirjeldab Eesti HIV-epideemia arengut ja annab lisainformatsiooni nakkushaiguste arstidele esmase ARV-ravi määramisel ning Sotsiaalministeeriumile ARV-ravimite riigihangete koostamisel. Kokkuvõtlikult võib öelda, et HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse tase on Eestis püsivalt madal ega viita hetkel RRM-de ravieelse testimise vajadusele.

7. JÄRELDUSED

- 2010. aasta HIV-diagnoosi saanud isikute hulgas on HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse tase 4,5 %.
- 2010. aastal esines kõige rohkem NNRTI-vastaseid mutatsioone (2,5%), millest K103N oli kõige sagedasem, tagades kõrgetasemelise resistentsuse efavirensile ja nevirapiinile. RRM-de jaotuvus vastas Eestis kasutusel olevale esimese rea ARV-ravimite profiilile.
- HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse tase ja profiil ei ole 2010. aastal võrreldes 2008. aastaga statistiliselt oluliselt muutunud.

8. KASUTATUD KIRJANDUS

1. Terviseamet. Nakkushaigustesse haigestumine. (<http://www.terviseamet.ee/nakkushaigused/nakkushaigustesse-haigestumine/hiv-ja-aids.html>).
2. UNAIDS. AIDS info database. (<http://www.aidsinfoonline.org>).
3. Rüütel K, Trummal A, Salekešin M, et al. HIV epideemia Eestis: Strateegilise info analüüs. Tallinn: WHO; 2011.
4. Lai T, Rätsep M, Rüütel K, et al. WHO. Modelling Estonia's concentrated HIV epidemic. Copenhagen: WHO; 2009.
5. Adojaan M, Kivisild T, Männik A, et al. Predominance of a rare type of HIV-1 in Estonia. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;39:598–605.
6. Volberding PA, Lagakos SW, Koch MA, et al. Zidovudine in asymptomatic human immunodeficiency virus infection. A controlled trial in persons with fewer than 500 CD4-positive cells per cubic millimeter. *N Engl J Med* 1990;322:941–949.
7. Larder BA, Kemp SD. Multiple mutations in HIV-1 reverse transcriptase confer high-level resistance to zidovudine (AZT). *Science* 1989;246:1155–1158.
8. Hammer SM, Squires KE, Hughes MD, et al. A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. *N Engl J Med* 1997;337:725–733.
9. Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1998;338:853–860.
10. Quinn TC, Wawer MJ, Sewankambo N, et al. Viral load and heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med* 2000;342:921–929.
11. Aruane HIVi ja AIDSi epidemioloogilistest olukorrast ning „Riikliku HIVi ja AIDSi strateegia aastateks 2006–2015” täitmisest 2010. aastal. Tallinn: Sotsiaalministeerium ja Tervise Arengu Instituut; 2010.
12. Gupta RK, Hill A, Sawyer AW, et al. Virological monitoring and resistance to first-line highly active antiretroviral therapy in adults infected with HIV-1 treated under WHO guidelines: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2009;9:409–417.
13. Coffin JM. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* 1995;267:483–489.
14. Shafer RW, Rhee SY, Pillay D, et al. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance. *AIDS* 2007;21:215–223.
15. Smith D, Moini N, Pesano R, et al. Clinical utility of HIV standard genotyping among antiretroviral-naïve individuals with unknown duration of infection. *Clin Infect Dis* 2007;44:456–458.
16. Monge S, Guillot V, Alvarez M, et al. Analysis of transmitted drug resistance in Spain in the years 2007–2010 documents a decline in mutations to the non-nucleoside drug class. *Clin Microbiol Infect* 2012;18:485–490.
17. Payne BA, Nsutebu EF, Hunter ER, et al. Low prevalence of transmitted antiretroviral drug resistance in a large UK HIV-1 cohort. *J Antimicrob Chemother* 2008;62:464–468.
18. Colafigli M, Torti C, Trecarichi EM, et al. Evolution of transmitted HIV-1 drug resistance in HIV-1-infected patients in Italy from 2000 to 2010. *Clin Microbiol Infect* 2012;18:299–304.
19. Descamps D, Chaix ML, Montes B, et al. Increasing prevalence of transmitted drug resistance mutations and non-B subtype circulation in antiretroviral-naïve chronically HIV-infected patients from 2001 to 2006/2007 in France. *J Antimicrob Chemother* 2010;65:2620–2627.
20. Vercauteren J, Wensing AM, van de Vijver DA, et al. Transmission of drug-resistant HIV-1 is stabilizing in Europe. *J Infect Dis* 2009;200:1503–1508.
21. SPREAD programme. Transmission of drug-resistant HIV-1 in Europe remains limited to single classes. *AIDS* 2008;22:625–635.

22. Avi R, Huik K, Sadam M, et al. Absence of genotypic drug resistance and presence of several naturally occurring polymorphisms of human immunodeficiency virus-1 CRF06_cpx in treatment-naïve patients in Estonia. *J Med Virol* 2009;81:953–958.
23. Avi R, Huik K, Pauskar M, et al. Emerging transmitted drug resistance in treatment-naïve human immunodeficiency virus-1 CRF06_cpx-infected patients in Estonia. *Scand J Infect Dis* 2011;43:122–128.
24. Weinstein MC, Goldie SJ, Losina E, et al. Use of genotypic resistance testing to guide hiv therapy: clinical impact and cost-effectiveness. *Ann Intern Med* 2001;134:440–450.
25. WHO. World Health Organization global strategy for the surveillance and monitoring of HIV drug resistance. Geneva: WHO; 2012.
26. Frankel AD, Young JA. HIV-1: fifteen proteins and an RNA. *Annu Rev Biochem* 1998;67:1-25
27. HIV databases. HIV Circulating Recombinant Forms (CRFs). (<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html>).
28. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868–871.
29. Levy JA, Hoffman AD, Kramer SM, et al. Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science* 1984;225:840–842.
30. Tebit DM, Arts EJ. Tracking a century of global expansion and evolution of HIV to drive understanding and to combat disease. *Lancet Infect Dis* 2011;11:45–56.
31. Gilbert PB, McKeague IW, Eisen G, et al. Comparison of HIV-1 and HIV-2 infectivity from a prospective cohort study in Senegal. *Stat Med* 2003;22:573–593.
32. Clavel F, Guyader M, Guétard D, et al. Molecular cloning and polymorphism of the human immune deficiency virus type 2. *Nature* 1986;324:691–695.
33. Buonaguro L, Tornesello ML, Buonaguro FM. Human immunodeficiency virus type 1 subtype distribution in the worldwide epidemic: pathogenetic and therapeutic implications. *J Virol* 2007;81:10209–10219.
34. Avi R. Natural polymorphisms and transmitted drug resistance in Estonia HIV-1 CRF06_cpx and its recombinant viruses (dissertation). Tartu: Tartu University Press; 2011.
35. Ustina V, Zilmer K, Tammai L, et al. Epidemiology of HIV in Estonia. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2001;17:81–85.
36. Nadembega WM, Giannella S, Simpore J, et al. Characterization of drug-resistance mutations in HIV-1 isolates from non-HAART and HAART treated patients in Burkina Faso. *J Med Virol* 2006;78:1385–1391.
37. WHO. Data on the size of the HIV/AIDS epidemic: Prevalence of HIV among adults aged 15 to 49 (%) by country. (<http://apps.who.int/gho/data/node.main.622?lang=en>).
38. UNAIDS. (2012). Regional fact sheet. (http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2012/gr2012/2012_FS_regional_ecca_en.pdf).
39. Li JZ, Gallien S, Do TD, et al. Prevalence and significance of HIV-1 drug resistance mutations among patients on antiretroviral therapy with detectable low-level viremia. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:5998–6000.
40. Arts EJ, Hazuda DJ. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2.
41. European AIDS clinical society (EACS). Guidelines version 6.1. (http://www.sm.ee/fileadmin/meedia/Dokumendid/Tervisevaldkond/Tervishoid/EACSGuidelines_v6.1_Nov2012.pdf). 2012.
42. EMA. European Medicines Agency. (<http://www.ema.europa.eu/ema/>).
43. U.S Food and Drug Administration. FDA-Approved Anti-HIV Medications. (http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/ApprovedMedstoTreatHIV_FS_en.pdf).
44. Shafer RW, Schapiro JM. HIV-1 drug resistance mutations: an updated framework for the second decade of HAART. *AIDS Rev* 2008;10:67–84.
45. Nijhuis M, Schuurman R, de Jong D, et al. Lamivudine-resistant human immunodeficiency virus type 1 variants (184V) require multiple amino acid changes to become co-resistant to zidovudine in vivo. *J Infect Dis.* 1997;398–405.

46. Stanford University HIV Drug Resistance Database. HIV drug resistance summaries. (<http://hivdb.stanford.edu/DR/>).
47. Vingerhoets J, Tambuyzer L, Azijn H, et al. Resistance profile of etravirine: combined analysis of baseline genotypic and phenotypic data from the randomized, controlled Phase III clinical studies. *AIDS* 2010;24:503–514.
48. Rhee SY, Taylor J, Fessel WJ, et al. HIV-1 protease mutations and protease inhibitor cross-resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:4253–4261.
49. Malet I, Delelis O, Valantin MA, et al. Mutations associated with failure of raltegravir treatment affect integrase sensitivity to the inhibitor in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:1351–1358.
50. Berger EA, Doms RW, Fenyö EM, et al. A new classification for HIV-1. *Nature* 1998;391:240.
51. Wei X, Decker JM, Liu H, et al. Emergence of resistant human immunodeficiency virus type 1 in patients receiving fusion inhibitor (T-20) monotherapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:1896–1905.
52. Erice A, Mayers DL, Strike DG, et al. Brief report: primary infection with zidovudine-resistant human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med* 1993;328:1163–1165.
53. Frentz D, Boucher CA, van de Vijver DA. Temporal changes in the epidemiology of transmission of drug-resistant HIV-1 across the world. *AIDS Rev* 2012;14:17–27.
54. Skoura L, Metallidis S, Buckton AJ, et al. Molecular and epidemiological characterization of HIV-1 infection networks involving transmitted drug resistance mutations in Northern Greece. *J Antimicrob Chemother* 2011;66:2831–2837.
55. Stańczak GP, Stańczak JJ, Marczyńska M, et al. Evolving patterns of HIV-1 transmitted drug resistance in Poland in the years 2000–2008. *J Med Virol* 2010;82:1291–1294.
56. Balode D, Westman M, Kolupajeva T, et al. Low prevalence of transmitted drug resistance among newly diagnosed HIV-1 patients in Latvia. *J Med Virol* 2010;82:2013–2018.
57. Dvali N, Parker MM, Chkhartishvili N, et al. Characterization of HIV-1 subtypes and drug resistance mutations among individuals infected with HIV in Georgia. *J Med Virol* 2012;84:1002–1008.
58. Saad MD, Shcherbinskaya AM, Nadai Y, et al. Molecular epidemiology of HIV Type 1 in Ukraine: birthplace of an epidemic. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2006;22:709–714.
59. HIV-infektsiooni ravi ja diagnostika. 2003. ([2003.http://www.esid.ee/cms/tl_files/failid/failid/HIV_Ravijuhend_2003.pdf](http://www.esid.ee/cms/tl_files/failid/failid/HIV_Ravijuhend_2003.pdf)).
60. Audelin AM, Gerstoft J, Obel N, et al. Molecular phylogenetics of transmitted drug resistance in newly diagnosed HIV Type 1 individuals in Denmark: a nation-wide study. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2011;27:1283–1290.
61. Rahim S, Fredrick LM, da Silva BA, et al. Geographic and temporal trends of transmitted HIV-1 drug resistance among antiretroviral-naïve subjects screening for two clinical trials in North America and Western Europe. *HIV Clin Trials* 2009;10:94–103.
62. Aruane HIVi ja AIDSi epidemioloogilisest olukorrast ning „Riikliku HIVi ja AIDSi strateegia aastateks 2006–2015” täitmisest 2011. aastal. Tallinn: Sotsiaalministeerium ja Tervise Arengu Instituut; 2011.
63. Lai T, Habicht J, Rüütel K. HIV levik Eestis ja võimalikud tulevikuproгноosid aastani 2015. *Eesti Arst*; 2009;88:267–273.
64. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents. (<http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf>).
65. De Gascun CF, Waters A, Regan C, et al. Documented prevalence of HIV type 1 antiretroviral transmitted drug resistance in Ireland from 2004 to 2008. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2012;28:276–281.
66. Frentz D, Boucher C, van Gorp E et al. Cost-effectiveness of baseline genotypic testing in HIV infected patients in the Netherlands. In: 11th European Meeting on HIV & Hepatitis- Treatment Strategies & Antiviral Drug Resistance; 20–22 March 2013; Rome, Italy. Abstract Book. Rome: 2013. p. 17.

67. Van Vaerenbergh K. Study of the impact of HIV genotypic drug resistance testing on therapy efficacy. *Verh K Acad Geneeskd Belg* 2001;63:447–473.
68. Karlsson A, Björkman P, Bratt G, et al. Low prevalence of transmitted drug resistance in patients newly diagnosed with HIV-1 infection in Sweden 2003–2010. *PLoS One* 2012;7.
69. Booth CL, Garcia-Diaz AM, Youle MS, et al. Prevalence and predictors of antiretroviral drug resistance in newly diagnosed HIV-1 infection. *J Antimicrob Chemother* 2007;59:517–524.
70. Wood E, Montaner JS, Yip B, et al. Adherence and plasma HIV RNA responses to highly active antiretroviral therapy among HIV-1 infected injection drug users. *CMAJ* 2003;169:656–661.
71. Uusküla A, Laisaar KT, Raag M, et al. Antiretroviral therapy (ART) adherence and correlates to nonadherence among people on ART in Estonia. *AIDS Care* 2012;24:1470–1479.
72. Avi R, Huik K, Pauskar M, et al. The pattern of drug resistance mutations in HIV-1 CRF06_cpx viruses failing the first-line NNRTI+2NRTI antiretroviral therapy. 10th European Meeting on HIV & Hepatitis – Treatment Strategies & Antiviral Drug Resistance, 28–30 March 2012 Barcelona Spain.
73. Sotsiaalministeerium. Antiretroviirusravi hankeplaan aastaks 2013. (<http://www.sm.ee/tegevus/tervis/tervishoid-ja-ravimid/hivaids-ja-tuberkuloosiravimid.html>).
74. Jayaraman GC, Archibald CP, Kim J, et al. A population-based approach to determine the prevalence of transmitted drug-resistant HIV among recent versus established HIV infections: results from the Canadian HIV strain and drug resistance surveillance program. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;42:86–90.

SUMMARY

HIV-1 transmitted drug resistance in newly diagnosed HIV-infected patients in Estonia in 2010

The HIV transmitted drug resistance (TDR) in drug naïve population is of growing relevance in Estonia where the number of subjects exposed to antiretroviral treatment is exponentially raising during the last years. In 2008 the rate of TDR had passed the clinically important level of 5%. In this study the aims were (i) to estimate the rate of TDR in newly diagnosed patients in Estonia in 2010; (ii) to describe the profile of drug resistance mutations (DRMs) in 2010; (iii) to compare the rate of TDR in 2010 to the year 2008.

In 2010 the HIV infection was first time detected in 372 persons of whom 244 constituted the study group. Viral genomic RNA was sequenced in protease (PR) and reverse transcriptase (RT) region. The sequences were analyzed using Stanford University HIV Drug Resistance Database (<http://cpr.stanford.edu/cpr.cgi>).

Over 90% of viruses were CRF06_cpx. The primary DRMs were detected in 4,5% (95% CI 2,54 to 7,89) of the viruses. No viruses had resistance against more than one ARV classes. The most prevalent (2,5%) DRMs were against NNRTIs. The NNRTI DRMs K101E and K103N were present in 1 and 5 cases, NRTI DRMs M41L, M184I, and K219E in 2, 1 and 1 cases, and PI DRM V82A in one case, respectively. Comparing year 2010 to year 2008 the prevalence of TDR and general DRMs profile has remained similar.

The prevalence of TDR in newly diagnosed patients is 4,5% in 2010 in Estonia. During the last 2 years the transmitted drug resistance has been stable (5,5% in 2008 and 4,5% in 2010). Such stabilizing or even decreasing trend has been recently described also in many Western-European countries. However, the level of transmitted drug resistance is approximately two times higher in these countries. Due to WHO recommendations and the increasing rate of antiretroviral therapy the dynamics of transmitted drug resistance should be monitored during the next years.

TÄNUAVALDUS

Sooviksin kogu südamest tänada oma juhendajaid Kristi Huiki ja Radko Avi toetuse, nõuannete ja osutatud abi eest. Suur tänu professor Irja Lutsarile, Evelin Kallasele ja Karolin Toomperele. Tänusõnad ka kõigile teistele abistajatele ja Mikrobioloogia Instituudi inimestele meeldiva töökeskkonna ja koostöö eest.

ELULUGU

Nimi: Merit Pauskar
Sünniaeg 14.06.1986. a.
E-post: meritpauskar@gmail.com

Haridus:

2011– ... Tartu Ülikool, Arstiteaduskond, Tervishoiu instituut (rahvatervishoid)
2005–2009 Tartu Tervishoiu Kõrgkool (bioanalüütik)
2002–2005 Tartu Tamme Gümnaasium (bioloogia eriklass)

Töökoht ja amet:

2009– ... Tartu Ülikool, Arstiteaduskond, Mikrobioloogia instituut; laborant
2007– ... Tartu Ülikool, Arstiteaduskond, Mikrobioloogia instituut, Meditsiinilise mikrobioloogia ja viroloogia õppetool; laborant
2007–2009 Tartu Ülikool, Arstiteaduskond, Mikrobioloogia instituut; laborant

Publikatsioonid:

Avi R, Huik K, Pauskar M, et al. Emerging Transmitted Drug Resistance in Treatment Naive Human Immunodeficiency Virus - 1 CRF06_cpx Infected Patients in Estonia. Scand J Infect Dis 2011; 43:122 – 8.

Pauskar M, Avi R, Huik K, et al. Transmitted drug resistance is 4.5% in newly diagnosed mainly HIV-1 CRF06_cpx infected patients in Estonia in 2010. Poster session presented at: 10th European Meeting on HIV & Hepatitis - Treatment Strategies & Antiviral Drug Resistance; 28 – 30 March 2012; Barcelona, Spain.

Pauskar M, Avi R, Huik K, et al. HIV-1 CRF06_cpx ülekanduv ravimresistentsus 2010. aastal esmasdiagnoositud isikute hulgas Eestis. Posterettekanne: TÜ Arstiteaduskonna päevad; 11 – 12 okt 2012; Tartu, Eesti.

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Merit Pauskar (14.06.1986)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

„HIV-1 ülekanduva ravimresistentsuse esinemine 2010. aastal HIV-diagnoosi saanud isikutel Eestis“, mille juhendajad on Radko Avi ja Kristi Huik,

1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 28.05.2013